บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบและสารเคมี

3.1.1 วัตถุดิบ

- ถั่วเขียวเลาะเปลือก ตราไร่ทิพย์ (บริษัท ไร่ทิพย์ จำกัด) ซื้อเดือน ธันวาคม 2552 เก็บไว้ในถุงพลาสติกที่อุณหภูมิห้อง
- น้ำมันถั่วเหลืองตราองุ่น (บริษัท น้ำมันพืชไทย จำกัด (มหาชน))
- เมล็ดงาขาว จากตลาดแม่เหียะ อ.เมือง จ.เชียงใหม่
- กลีเซอร์รอลโมโนเสตียเรต (glycerol monostearate, GMS) : APS finechem, Australia ขั้นคุณภาพสำหรับอาหาร จากห้างหุ้นส่วนจำกัด โอ.วี. เคมิเคิล แอนด์ ซัพพลาย
- แคลเซียมคาร์บอเนต (calcium carbonate, $CaCO_3$) : APS finechem, Australia ขั้นคุณภาพสำหรับอาหาร จากห้างหุ้นส่วนจำกัดโอ.วี.เคมิเคิล แอนด์ ซัพพลาย

3.1.2 สารเคมี

- เอทิลแอลกอฮอล์ (ethyl alcohol, C_2H_5OH) : Merck, Germany
- โปเตโตอะไมโลสบริสุทธิ์ (potato amylose) : Fluka, Switzerland
- ไอโอดีน (iodine, I_2) : APS finechem, Australia
- กรดอะซิติก (acetic acid, CH_3COOH) : Merck, Germany
- กรดไฮโดรคลอริก (hydrocroic acid, HCl) : Fluka, Switzerland
- กรดซัลฟิวริก (sulfuric acid, H_2SO_4) : Fluka, Switzerland
- โซเดียมอะเซเตต (ไตรไฮเดรต) (sodium acetate (tri-hydrate), $CH_3COONA*3H_2O$) : Merck, Germany
- โพแทสเซียมคลอไรด์ (potasium chloride, KCl) : APS finechem, Australia
- ทริส (ไฮโดรเมตทิล) อะมิโนเมตเทน (tris (hydroymethyl) aminomethane, $C_4H_{11}NO_3$): Merck, Germany
- กรดมาลิค (maleic acid, $HO_2CCH:CHCO_2H$) : APS finechem, Australia
- โซเดียมไฮดรอกไซด์ (sodium hydroxide, NaOH) : APS finechem, Australia

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

- เอนไซม์เปปซิน (pepsin from porcine gastric mucosa) : Sigma–Aldrich, USA
- เอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดต (amyloglucosidase) : Fluka, Switzerland
- เอนไซม์อัลฟา-อะไมเลส (α-amylase *from aspergillus oryzae*) : Fluka, Switzerland
- ชุดตรวจวิเคราะห์ปริมาณกลูโคส (glucose assay kit, GAGO-20) : Sigma –Aldrich, USA

3.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ

3.2.1 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในกระบวนการผลิตขนมขบเคี้ยวจากแป้งถั่วเขียว

- เครื่องเอกซ์ทรูเดอร์แบบสกรูเดี่ยว (Barbender laboratory extruder) รุ่น 19/20 DN, Brabender DHG, Germany
- เครื่องวัดความชื้น (Moisture analyzer) รุ่น MA50: Sartorius, Germany
- เครื่องร่อนตะแกรง (Test sieve shaker) รุ่น 200 : Octagon, England
- ชุดตะแกร่งร่อนขนาด 40, 50, 70, 140 และ 200 เมช
- เครื่องผสม (Kitchen aid) รุ่น 5KSM 150, USA
- ตู้อบลมร้อนแบบไฟฟ้า (Hot air oven) : Termark, Germany
- เครื่องบดแบบค้อน (Hammer mill) รุ่น Armfield FT2 : Armfield, England
- เครื่องชั่งแบบดิจิตอล (Analytical balance) รุ่น USD-100: Yamato, Japan

3.2.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพ

ก) อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

- คาลิปเปอร์ แบบดิจิตอล (Digital caliper) ขนาด 300 มิลลิเมตร : Suntech, China
- เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Analytical balance) รุ่น Sartorius BP210S: Sartorius, Germany
- เครื่องวิเคราะห์ความหนืดแบบรวดเร็ว (Rapid Visco Analyzer, RVA) รุ่น 4S Newport Scientific, Australia
- เครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge) รุ่น 200A : Hermle, Germany

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

- ตู้อบลมร้อนแบบไฟฟ้า (Hot air oven) : Termark, Germany

ข) อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

- เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (UV/VIS Spectrometer) รุ่น Lamda25:Perkin Elmer, Permany
- เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Analytical balance) รุ่น BB 120, Switzerland
- เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Analytical balance) รุ่น A 120S, Switzerland
- เครื่องอบลมร้อนแบบไฟฟ้า (Hot air oven) รุ่น 400 Memmert, Germany
- อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath) รุ่น Hito HMT 300 thermostat, Denmark

3.3 วิธีการทดลอง

3.3.1 ศึกษาสมบัติทางกายภาพและเคมีของแป้งถั่วเขียว

นำถั่วเขียวเลาะเปลือก ตราไร่ทิพย์ มาบดด้วยเครื่องบดแบบค้อน ผ่านตะแกรงขนาด 0.8 มิลลิเมตร จากนั้นร่อนด้วยเครื่องคัดแยกขนาดเพื่อให้ได้แป้งถั่วเขียวที่มีขนาดอนุภาคในช่วง 50 – 100 เมช วิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและเคมีของแป้งถั่วเขียวดังนี้

1. วัดความหนาแน่น (bulk density) โดยวิธีวัดมวลต่อปริมาตร (Tisdall, 1951)
2. วัดค่าการดูดซึมน้ำ (water absorption index, WAI) และค่าการละลายน้ำ (water solubility index, WSI) โดยวิธีวัดการดูดซึมน้ำและการละลายน้ำ (Anderson, 1982)
3. วิเคราะห์ค่าดัชนีไกลซิมิค (GI) โดยวิธี starch hydrolysis (Goni *et al*., 1997)
4. วัดปริมาณความชื้น (moisture content) โดยใช้เครื่อง Moisture Analyzer (รุ่น MA50: sartorius, Germany)
5. วิเคราะห์หาปริมาณอะไมโลส (amylose content) โดยวิธีทำปฏิกิริยากับไอโอดีน (Pomeranz, 1985)
6. วัดความหนืด (viscosity) จากการเกิดเจลาติไนซ์ของแป้ง (AACC., 2000) โดยใช้เครื่อง Rapid Visco Analyzer (รุ่น 4S Newport Scientific, Australia)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.3.2 ศึกษาผลของการนึ่งและการอบแห้งถั่วเขียวต่อสมบัติทางกายภาพ เคมีและดัชนีไกลซิมิค

3.3.2.1 การเตรียมแป้งถั่วเขียวปรับสภาพ

แช่ถั่วเขียวเลาะเปลือกในน้ำเป็นเวลา 30 นาที อัตราส่วนถั่วเขียว 0.5 กิโลกรัมต่อน้ำ 2 ลิตร หลังจากนั้นนึ่งถั่วเขียวเพื่อให้เกิดเจลบางส่วนโดยกำหนดเวลานึ่งแตกต่างกันเป็นเวลา 10 20 และ 30 นาที (นึ่ง 30 นาที ถั่วเขียวเกิดจะเกิดเจลาติไนซ์ทั้งหมด) โดยวางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) แล้วนำไปอบให้แห้งด้วยเครื่องอบแบบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ซึ่งเป็นระดับอุณหภูมิและเวลาที่ส่งผลต่อคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์น้อยที่สุด เพื่อลดความชื้นให้อยู่ในช่วง 8-14 % และมีวอเตอร์ แอคติวิตีต่ำกว่า 0.6 ซึ่งเป็นช่วงที่ปลอดภัยจากเชื้อจุลินทรีย์ (นิธิยา, 2545) แล้วนำมาบดและร่อนเช่นเดียวกับการทดลองที่ 3.3.1 วิเคราะห์สมบัติต่างๆ ดังนี้

1. วัดค่าการดูดซึมน้ำ (WAI) และค่าการละลายน้ำ (WSI)
2. วัดความหนืด
3. วิเคราะห์ค่า GI
4. วัดปริมาณความชื้น
5. วัดความหนาแน่น (ก่อนบดลดขนาด)

3.3.2.2 การเปลี่ยนแปลงค่า GI ของแป้งถั่วเขียวระหว่างการเตรียม

นำถั่วเขียวที่ผ่านการนึ่งเป็นเวลา 10 และ 30 นาที มาวิเคราะห์ค่า GI โดยแบ่งเป็น 3 ขั้นตอนดังนี้

1. ถั่วเขียวนึ่งมาวิเคราะห์ทันที
2. ถั่วเขียวนึ่งทิ้งไว้ให้เย็น ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
3. ถั่วเขียวนึ่งตามเวลาที่กำหนดแล้วนำไปอบแห้ง ด้วยเครื่องอบแบบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.3.3 ศึกษาผลของปริมาณความชื้นของแป้งถั่วเขียวและอุณหภูมิของเครื่องเอกซ์ทรูเดอร์แบบสกรูเดี่ยวต่อคุณสมบัติทางกายภาพ เคมีและดัชนีไกลซิมิค

3.3.3.1 การเตรียมวัตถุดิบ

นำถั่วเขียวที่ผ่านการนึ่งตามเวลาที่เหมาะสมจากการทดลองตอนที่ 3.3.2 (พิจารณาจากค่า GI) ที่มีค่าน้อยที่สุด และบดให้มีขนาดอนุภาคอยู่ในช่วง 50 – 100 เมช

3.3.3.2 การวางแผนการทดลอง

ศึกษาผลปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของแป้งถั่วเขียวที่ผ่านการเอกซ์ทรูชัน 3 ปัจจัย ได้แก่ ปริมาณความชื้นในช่วง 14 – 20 % ซึ่งเป็นช่วงที่กว้างมีระดับความชื้นที่ต่ำไปถึงระดับความชื้นที่สูง อุณหภูมิโซนที่ 2 ในช่วง 80-120 องศาเซลเซียส อุณหภูมิได (die temperature) ในช่วง 120 - 160 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นช่วงที่มีอุณหภูมิในระดับที่ต่ำไปถึงอุณหภูมิในระดับที่สูง เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของแป้งถั่วเขียวที่ผ่านการเอกซ์ทรูชันในสภาวะแต่ละระดับปริมาณความชื้นอุณหภูมิของเครื่องเอกซ์ทรูเดอร์และโดยวางแผนการทดลองแบบ central composite design (CCD) (ตารางที่ 3.1) กำหนดอุณหภูมิบาร์เรลโซนที 1 เท่ากับ 80 องศาเซลเซียส ความเร็วสกรู 100 รอบต่อนาที อัตราการป้อน 20 รอบต่อนาที และความเร็วของใบมีด 150 รอบต่อนาที

นำถั่วเขียวมาปรับความชื้นตามแผนการทดลอง และป้อนเข้าเครื่องเอกซ์ทรูเดอร์แบบสกรูเดี่ยวตามสภาวะในตารางที่ 3.1 อบผลิตภัณฑ์ที่ออกจากเครื่องด้วยเครื่องอบแบบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จนมีความชื้นเหลือประมาณ 10% เก็บตัวอย่างใส่ถุงพลาสติก รัดปากถุง ให้แน่นนำมาวิเคราะห์ค่าต่างๆ ดังนี้

1. วัดค่าการดูดซึมน้ำ (WAI) และค่าการละลายน้ำ (WSI)
2. วัดความหนืด
3. วิเคราะห์ค่า GI
4. วัดความหนาแน่น (bulk density)
5. วัดอัตราการพองตัว (expansion ratio) โดยใช้ digital caliper
6. คำนวณค่าพลังงานกลจำเพาะ (specific mechanical energy : SME)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 3.1 แผนการทดลองศึกษาผลของปริมาณความชื้น อุณหภูมิโซนที่ 2 และอุณหภูมิได

สภาวะที่	อุณหภูมิโซนที่ 2		อุณหภูมิได		ความชื้น	
	รหัส	องศาเซลเซียส	รหัส	องศาเซลเซียส	รหัส	%
1	-1	80	-1	120	-1	14
2	+1	120	-1	120	-1	14
3	-1	80	+1	160	-1	14
4	+1	120	+1	160	-1	14
5	-1	80	-1	120	+1	20
6	+1	120	-1	120	+1	20
7	-1	80	+1	160	+1	20
8	+1	120	+1	160	+1	20
9	-1.682	66	0	140	0	17
10	+1.682	134	0	140	0	17
11	0	100	-1.682	106	0	17
12	0	100	+1.682	174	0	17
13	0	100	0	140	-1.682	12
14	0	100	0	140	+1.682	22
15	0	100	0	140	0	17
16	0	100	0	140	0	17
17	0	100	0	140	0	17
18	0	100	0	140	0	17
19	0	100	0	140	0	17
20	0	100	0	140	0	17

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.3.4 ศึกษาผลของความเร็วสกรูและอัตราการป้อนของเครื่องเอกซ์ทรูเดอร์แบบสกรูเดี่ยวต่อสมบัติทางกายภาพ เคมีและดัชนีไกลซิมิค

เตรียมแป้งถั่วเขียวตามวิธีในข้อ 3.3.3.1 ปรับให้มีปริมาณความชื้น 20 % ป้อนเข้าเครื่องเอกซ์ทรูเดอร์โดยกำหนดให้อุณหภูมิโซนที่ 1 เท่ากับ 80 องศาเซลเซียส อุณหภูมิโซนที่ 2 และอุณหภูมิไดที่ทำให้ผลิตภัณฑ์มีค่า GI ต่ำที่สุดจากการทดลองที่ 3.3.3 เพื่อศึกษาอิทธิพลของความเร็วสกรูและอัตราการป้อนต่อคุณภาพของเอกซ์ทรูเดต โดยวางแผนการทดลองแบบ central composite design (CCD) 2^2 ความเร็วสกรูในช่วง 80 – 120 รอบต่อนาที และอัตราการป้อนในช่วง 20-50 รอบต่อนาที (ตารางที่ 3.2) อบผลิตภัณฑ์ที่ออกจากเครื่องด้วยเครื่องอบแบบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จนมีความชื้นเหลือประมาณ 10 % เก็บตัวอย่างใส่ถุงพลาสติก รัดปากถุงให้แน่นนำมาวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ เคมีและดัชนีไกลซิมิค เช่นเดียวกับทดลองที่ 3.3.3

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 3.2 แผนการทดลองศึกษาผลของการปรับความเร็วสกรูและอัตราการป้อน

สภาวะที่	ความเร็วรอบสกรู		อัตราการป้อน	
	รหัส	รอบ/นาที	รหัส	รอบ/นาที
1	-1	80	-1	20
2	1	120	-1	20
3	-1	80	1	50
4	1	120	1	50
5	-1.414	72	0	35
6	1.414	128	0	35
7	0	100	-1.414	14
8	0	100	1.414	56
9	0	100	0	35
10	0	100	0	35
11	0	100	0	35
12	0	100	0	35
13	0	100	0	35

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved